

# PENGARUH KONSENTRASI RAGI YANG BERBEDA TERHADAP PERTUMBUHAN POPULASI *Daphnia* sp.

(Effect of Feeding Rates of Yeast on Growth of *Daphnia*)

Dedi Jusadi<sup>1</sup>, Dewi Sulasingkin<sup>1</sup>, dan Ing Mokoginta<sup>1</sup>

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ragi (*Saccharomyces cerevisiae*) dengan konsentrasi yang berbeda sebagai pakan terhadap pertumbuhan populasi *Daphnia* sp. Penelitian ini berupa budidaya *Daphnia* sp. yang diberi pakan kotoran ayam dan ragi. Kotoran ayam yang digunakan adalah kotoran ayam yang sudah dikeringkan dengan konsentrasi 2.4 g/l. Sedangkan ragi yang digunakan adalah ragi roti dengan tiga dosis yang berbeda yaitu 1 g ragi untuk 80 000, 40 000 dan 20 000 *Daphnia* sp per hari. *Daphnia* berumur 1-2 hari. Penebaran awal *Daphnia* sp pada masing-masing perlakuan adalah 100 ekor/liter. Populasi *Daphnia* sp di dalam media kotoran ayam meningkat sampai hari ke-7, kemudian menurun mulai hari ke-8. Sedangkan yang diberi pakan ragi mencapai puncaknya setelah dipelihara selama 10 hari. Jumlah individu *Daphnia* sp waktu puncak pada media kotoran ayam adalah 333 ind/liter. Puncak populasi *Daphnia* sp dengan media ragi lebih tinggi dibandingkan dengan media kotoran ayam ( $p < 0.05$ ). Namun antara berbagai konsentrasi ragi, puncak populasi tersebut tidak berbeda nyata. Puncak populasi pada media dengan konsentrasi 1 g ragi untuk 80 000, 40 000 dan 20 000 ekor *Daphnia* sp, berturut-turut yaitu 1 603, 1 295 dan 1 082 ind/liter. Konversi pakan ragi meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ragi yaitu 0.5, 1.02, dan 1.6. Bobot tubuh pada saat puncak populasi hampir sama, ini berarti ukuran *Daphnia* sp pada setiap perlakuan tidak berbeda. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan ragi dengan konsentrasi 1 g untuk 80 000 ekor *Daphnia* sp dalam budidaya *Daphnia* sp menghasilkan nilai konversi pakan terbaik yaitu 0.5. Nilai ini dicapai pada hari ke-10 masa budidaya.

**Kata kunci:** *Daphnia*, ragi, kotoran ayam.

## ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate the effect of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on the population growth of *Daphnia*. In this experiment, *Daphnia* were cultured in 12-l culture medium using two kinds of food, namely chicken manure or yeast. In treatment one, three days prior the inoculation of *Daphnia*, 2.4 g of chicken manure were introduced to 1 litre culture medium. While in treatments 2 till 4, 1g of yeast were fed to either 80 000, 40 000, or 20 000 *Daphnia* per day. For 1 litre culture medium, 100 *Daphnia* were inoculated. In treatment one, maximum population density of *Daphnia* were reached on day 7 of culture period (333 ind./l). On the other hand, maximum population density of *Daphnia* fed on yeast were reached on day 10 (1 083 - 1 603 ind./l), significantly higher than that in treatment one ( $p < 0.05$ ). While among yeast's treatments, those population density was not different. The best feed conversion ratio (0.5) was found in the treatment which 1 g yeast were fed on 80 000 *Daphnia*. It was also found that total body weight of *Daphnia* during maximum population density were almost the same among the treatments.

**Key words:** *Daphnia*, yeast, chicken manure.

## PENDAHULUAN

Budidaya *Daphnia* sp. biasanya dilakukan dengan menggunakan kotoran ayam sebagai media kultur. Di air, kotoran ayam merupakan bahan organik dan juga merupakan media tempat tumbuh fitoplankton dan bakteri, yang ketiganya dapat dimanfaatkan sebagai pakan *Daphnia* sp. Pada budidaya *Daphnia* sp yang menggunakan media kotoran ayam, sering dijumpai ke-

matian massal terutama pada saat penambahan pupuk susulan, sehingga sulit diperoleh budidaya yang kontinu. Menurut Dinges (1973) yang menyebabkan kematian *Daphnia* sp antara lain adalah tidak adanya oksigen terlarut, senyawa sulfida terlarut yang beracun dan disosiasi amonia menjadi bahan-bahan beracun.

*Daphnia* sp memiliki sifat *non selective filter feeder*, yakni memakan partikel tersuspensi yang sesuai dengan bukaan mulutnya. Ragi merupakan bahan yang dapat tersuspensi dalam air dan memiliki kandungan gizi yang tinggi.

<sup>1</sup> Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Dalam bobot kering, ragi memiliki kadar protein 42.92%, lemak 0.66%, karbohidrat 51.44% serta abu 4.98% (Chumaedi dan Djajadireja, 1982). Diduga ragi dapat dipakai sebagai pakan di dalam budidaya *Daphnia* sp dan tidak menimbulkan efek racun. Hal ini didasari pada pengalaman budidaya rotifera dengan memakai ragi sebagai pakan yang dapat dilakukan secara kontinu dengan populasi yang tinggi (Watanabe, 1983). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ragi dengan konsentrasi yang berbeda sebagai pakan terhadap pertumbuhan populasi *Daphnia* sp.

## BAHAN DAN METODE

### Prosedur penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, di Bogor. Perlakuan yang digunakan, yaitu pemeliharaan *Daphnia* sp dengan menggunakan kotoran ayam dan ragi sebagai pakan. Kotoran ayam yang digunakan adalah kotoran ayam yang sudah dikeringkan dengan konsentrasi 2.4 g/l (Harrijanto, 1974). Dalam bobot kering, kotoran ayam yang digunakan memiliki protein 13.15%, lemak 1.02%, abu 27.11%, bahan ekstrak tanpa N 13.68%, serat kasar 45.04% dan air 33.92%. Sedangkan ragi yang digunakan adalah ragi roti dengan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 1g ragi untuk 80 000, 40 000 dan 20 000 *Daphnia* sp per hari. Dalam bobot kering, ragi mengandung protein 55.17%, lemak 3.42%, abu 4.90%, bahan ekstrak tanpa N 33.22%, serat kasar 2.68%, air 0.48%. Setiap perlakuan dilaksanakan dengan empat ulangan, namun karena keterbatasan wadah, penelitian ini dilakukan dalam dua tahap waktu yang berbeda. Setiap tahap penelitian dilakukan untuk semua perlakuan yang diulang dua kali, pada suhu 26-27°C.

Prosedur pelaksanaan penelitian dengan perlakuan kotoran ayam adalah dua buah akuarium ukuran 50 x 40 x 30 cm<sup>3</sup>, diisi air kolam sampai 50 liter. Ke dalam akuarium tersebut dimasukkan kotoran ayam sebanyak 124 g atau setara 2.4 g/liter. Akuarium diaerasi dan dibiarkan dalam kondisi demikian dengan harapan proses dekomposisi berjalan sempurna selama 4 hari. Air kotoran ayam ini mengandung bakteri dengan kepadatan 8 x 10<sup>7</sup> CFU/ml, selanjutnya dipindahkan ke dalam dua buah wadah plastik

transparan berbentuk bulat dengan kapasitas 19 liter masing-masing sebanyak 15 liter. Sisa air di akuarium dibiarkan untuk nantinya dipakai sebagai air pengganti di dalam wadah plastik transparan pada saat proses penggantian air. Metode penelitian ini merupakan modifikasi dari Kusumaryanto (1988).

Enam buah wadah plastik transparan lainnya diisi 15 liter air kolam yang diaerasi. Wadah ini dipakai untuk budidaya *Daphnia* sp dengan memakai ragi sebagai pakan. Pada masing-masing perlakuan, *Daphnia* sp ditebar sebanyak 100 ekor/liter. *Daphnia* sp diperoleh dari hasil budidaya di dalam wadah volume 1 ton dengan memakai kotoran ayam sebagai medianya.

Penentuan padat tebar dilakukan dengan cara pengambilan contoh, yaitu: (1) Air media budidaya *Daphnia* pada volume 1 ton diambil dengan gelas piala 100 ml sebanyak tiga kali; (2) Air di dalam gelas piala 100 ml dipindahkan ke dalam wadah bervolume 250 ml (pengenceran 2.5 kali); (3) Air dalam wadah 250 ml dituangkan perlahan-lahan sambil dilakukan perhitungan jumlah *Daphnia* sp. yang ada; (4) Kepadatan *Daphnia* sp di dalam wadah 1 ton diketahui dengan cara mengkonversi hasil perhitungan pada butir (3) dengan pengenceran air yang dilakukan pada butir (2); (5) Air di dalam wadah 1 ton diambil sesuai dengan jumlah *Daphnia* sp yang diinginkan di dalam tiap wadah penelitian. Air tersebut disaring dengan memakai saringan yang terbuat dari kain kasa halus, lalu *Daphnia* sp yang tersaring dimasukkan ke dalam wadah penelitian; (6) Dengan metode yang sama, kepadatan *Daphnia* di dalam wadah penelitian dihitung kembali, sehingga diperoleh angka kepadatan yang lebih akurat.

Pemberian makanan pada perlakuan ragi dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu pagi, siang dan sore hari. Ragi dilarutkan dalam 500 ml air dengan cara diaduk dengan menggunakan alat pengaduk (*mixer*), kemudian ragi yang sudah larut diberikan pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan pipet sesuai dosis yang telah ditetapkan. Sedangkan pada media kotoran ayam, cara pemberian pakan dilakukan dengan mengganti 25 % air setiap hari dari volume total awal dengan air dari media sediaan di dalam akuarium ukuran 50 x 40 x 30 cm<sup>3</sup>.

Pada masa pemeliharaan *Daphnia* sp yang diberi ragi, dilakukan penggantian air pada ma-

sing-masing perlakuan sebanyak 25% pada hari ke-1 sampai hari ke-7, 50% pada hari ke-8 sampai hari ke-14. Sedangkan pada media kotoran ayam dilakukan penggantian air sebanyak 25% pada hari ke-1 sampai hari ke-14. Untuk media kotoran ayam menggunakan air dari media sedimen, sedangkan untuk ragi menggunakan air kolam yang masing-masing diberikan aerasi terlebih dahulu.

## Analisa Data

### Pengambilan Contoh Populasi

Data populasi *Daphnia* sp diperoleh dengan cara pengambilan contoh populasi setiap hari. Pengambilan contoh dilakukan sebanyak 3 ulangan dengan menggunakan gelas piala 100 ml yang diberi pegangan dari kayu. Sebelum melakukan pengambilan contoh dilakukan pengadukan terlebih dahulu, supaya penyebaran *Daphnia* sp merata. Pengambilan contoh populasi dilakukan setiap pukul 8.30-9.30 WIB. Cara menghitung populasi *Daphnia* sp adalah sama dengan yang dijelaskan sebelumnya.

### Konversi Pakan

Rasio konversi pakan (*Feed Conversion Ratio*) dilakukan dengan menghitung jumlah pakan yang diberikan selama pemeliharaan *Daphnia* sp dan dibandingkan dengan selisih antara bobot biomasa pada puncak populasi dengan bobot biomasa awal, dengan formula:

$$FCR = \frac{\text{Pakan yang Diberikan Sampai Puncak Populasi}}{\text{Bobot Akhir} - \text{Bobot Awal}}$$

### Komposisi Kimia *Daphnia* sp

Analisa kimia yang dilakukan yaitu analisa proksimat, meliputi kadar protein, kadar lemak dan kadar air tubuh *Daphnia* sp. Prosedur analisa sesuai dengan yang dijelaskan oleh Watanabe (1988). Analisa tersebut dilakukan pada semua perlakuan pada saat mencapai puncak populasi.

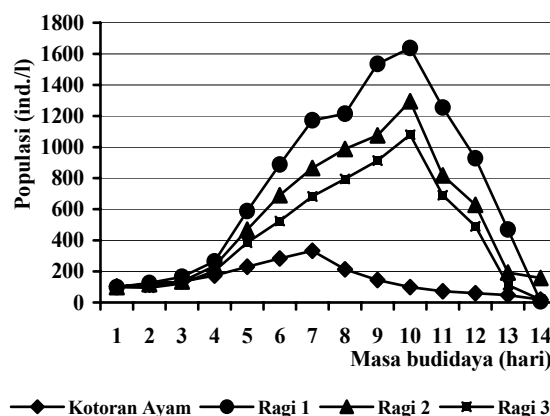
### Analisa Statistik

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data parameter uji dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pada tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Tukey (Steel dan Torrie, 1981). Data yang dianalisis yaitu data

saat puncak populasi, konversi pakan, dan bobot biomasa *Daphnia* sp pada saat puncak.

## HASIL

Perkembangan populasi *Daphnia* sp pada berbagai media budidaya yang berbeda yaitu pada media kotoran ayam dan media ragi dengan konsentrasi yang berbeda selama penelitian disajikan pada Gambar 1. Populasi *Daphnia* sp di dalam media kotoran ayam meningkat sampai hari ke tujuh dan kemudian turun kembali. Jumlah individu *Daphnia* sp pada hari ke tujuh di dalam media kotoran ayam mencapai 333 ind/liter. Sama halnya dengan perlakuan kotoran ayam, budidaya *Daphnia* sp yang diberi ragi tidak dapat berlangsung secara kontinu. Populasi *Daphnia* sp dengan pakan ragi mencapai puncaknya setelah dipelihara selama 10 hari. Jumlah individu *Daphnia* sp pada hari ke sepuluh di dalam media kultur dengan konsentrasasi 1g ragi untuk 80 000, 40 000 dan 20 000 ekor *Daphnia* sp dengan kepadatan berturut-turut yaitu 1 603 ind/liter, 1 295 ind/liter dan 1 082 ind/liter.



**Gambar 1.** Perkembangan Populasi *Daphnia* sp dengan Perlakuan yang Berbeda. Ragi 1: 1 g untuk 80 000 *Daphnia* sp Ragi 2: 1 g untuk 40 000 *Daphnia* sp Ragi 3: 1 g untuk 20.000 *Daphnia* sp.

Tabel 1 menunjukkan, bahwa puncak populasi *Daphnia* sp dengan media ragi lebih tinggi dibandingkan dengan media kotoran ayam. Namun antara berbagai konsentrasi ragi, puncak populasi tersebut tidak berbeda nyata. Jumlah ragi yang diberikan sampai dengan puncak populasi pada setiap perlakuan adalah 1 423 mg, 2 156 mg dan 3 688 mg, sedangkan konversi pakan ragi meningkat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ragi yaitu dari 0.5 ke 1.6. Bobot bio-

massa pada saat puncak populasi hampir sama pada setiap perlakuan yaitu 2 936 mg, 2 309 mg

dan 2 455 mg yang berarti ukuran *Daphnia* sp pada setiap perlakuan tidak berbeda.

**Tabel 1. Konversi Pakan, Jumlah Pakan dan Biomasa *Daphnia* sp. pada Saat Puncak Populasi (Hari ke-10 Masa Budidaya) pada Perlakuan yang Berbeda.**

Parameter	Perlakuan			
	Kotoran Ayam	Ragi 1 (1/80 000)	Ragi 2 (1/40 000)	Ragi 3 (1/20 000)
Jumlah pakan (mg)	TD <sup>2</sup>	1 423 ± 119.7 <sup>a1</sup>	2 156 ± 805.5 <sup>ab</sup>	3 688 ± 1 789.4 <sup>b</sup>
Bobot biomassa (mg)	TD	2 936 ± 644.3 <sup>a</sup>	2 309 ± 681.4 <sup>a</sup>	2 455 ± 566.7 <sup>a</sup>
Populasi (ind/l)	333 ± 0.1 <sup>b</sup>	1 603 ± 280 <sup>a</sup>	1 295 ± 322 <sup>a</sup>	1 083 ± 476 <sup>a</sup>
Konversi pakan	TD	0.50 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.38 <sup>ab</sup>	1.67 ± 0.85 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Huruf yang berbeda di belakang nilai rata-rata pada baris yang sama menunjukkan beda nyata pada taraf 95%.

<sup>2</sup>TD: Tidak dihitung.

Peningkatan populasi *Daphnia* sp yang tinggi di hari ke-7 dapat mempengaruhi media budidaya (Tabel 2). Pada populasi yang tinggi kandungan amoniak akan semakin tinggi. Kandungan amoniak pada hari ke-7 di perlakuan Ragi 1 menunjukkan kisaran nilai yang lebih tinggi. Hal ini diduga akibat jumlah individu yang tinggi, sehingga ekskresi *Daphnia* sp semakin tinggi, yang akan menyebabkan kandungan amoniaknya tinggi. Sedangkan pada hari ke-14 kadar ammonia di tiap perlakuan menunjukkan angka yang relatif sama. Kualitas air lainnya, yaitu pH dan oksigen terlarut relatif sama pada setiap perlakuan dan kondisinya baik untuk menunjang kehidupan *Daphnia*. Kisaran pH adalah 6.23 – 7.55 dan oksigen terlarut 4.37 – 5.72 ppm, masih layak untuk kehidupan *Daphnia*.

**Tabel 2. Kisaran Nilai NH<sub>3</sub>-N (mg/l) pada Media Budidaya *Daphnia* sp dengan Perlakuan yang Berbeda.**

Perlakuan	Masa budidaya (hari ke-)		
	1	7	14
Kotoran Ayam	0.12 - 0.25	0.13 - 0.74	1.12 - 1.14
Ragi 1	0.10 - 0.15	1.03 - 1.13	1.32 - 1.49
Ragi 2	0.02 - 0.05	0.37 - 0.87	1.22 - 1.42
Ragi 3	0.01 - 0.15	0.55 - 0.75	1.23 - 1.62

Kandungan nutrisi *Daphnia* sp pada berbagai konsentrasi menunjukkan, bahwa kadar protein dan kadar air antar perlakuan tidak berbeda nyata. Namun kadar lemak *Daphnia* sp pada perlakuan ragi lebih tinggi dari perlakuan kotoran ayam (Tabel 3).

## PEMBAHASAN

Media budidaya yang berbeda, berpengaruh nyata terhadap perkembangan populasi *Daph-*

*nia* sp. Puncak populasi *Daphnia* yang dibudidayakan dengan memakai media kotoran ayam terjadi pada hari ke tujuh, dengan jumlah individu yang hanya mencapai antara 20.8 – 30.7% dari populasi *Daphnia* yang dibudidayakan dengan media ragi.

**Tabel 3. Kandungan Nutrisi *Daphnia* sp (% Bobot Kering) pada Saat Mencapai Puncak Populasi (Hari ke-10 Masa Budidaya) pada Perlakuan yang Berbeda.**

Parameter	Perlakuan			
	Kotoran Ayam	Ragi 1 (1/80.000)	Ragi 2 (1/40.000)	Ragi 3 (1/20.000)
Protein	67.92	69.90	65.95	63.83
Lemak	13.33	20.19	21.75	21.11
Kadar air	89.50	89.70	88.78	88.28

Pada perlakuan kotoran ayam, empat hari setelah inoculasi kotoran ayam berakibat pada tersuspensinya kotoran ayam tersebut di dalam media budidaya serta tumbuhnya bakteri dengan kepadatan  $8 \times 10^7$  CFU/ml. Bahan organik dan bakteri ini merupakan pakan *Daphnia*. Diduga pada konsentrasi ini, pakan tersebut tidak mampu mencukupi kebutuhan *Daphnia* untuk tumbuh dan berkembang biak secara maksimal, sehingga pada saat puncak populasi jumlahnya lebih sedikit dari perlakuan lain. Setelah hari ke tujuh masa budidaya, pakan di dalam media budidaya diduga sudah sangat minimal sekali konsentrasinya, sehingga *Daphnia* tidak dapat mempertahankan hidupnya lagi, yang pada akhirnya menyebabkan kematian (penurunan populasi).

Pada media ragi jumlah individu yang dihasilkan pada puncak lebih tinggi dibandingkan dengan kotoran ayam, dan waktu mencapai puncak lebih lama. Hal ini disebabkan oleh terse-

dianya pakan secara kontinu dalam jumlah yang dapat memenuhi kebutuhan *Daphnia*. Namun, pada hari ke-11 populasi *Daphnia* sp mulai menurun. Penurunan populasi ini diduga akibat tingginya bahan beracun di dalam media budidaya sejalan dengan bertambahnya jumlah populasi, seperti misalnya sisa pakan (secara kasat mata terlihat seperti lendir) yang banyak menempel di dinding wadah. Meskipun setiap hari dilakukan penggantian air sebanyak 25% sampai hari ke-7 dan 50% mulai hari ke-8, dengan jumlah pakan yang diberikan sesuai dengan jumlah individu yang ada. Ternyata perlakuan ini tidak dapat mempertahankan kondisi air yang dapat menunjang kehidupan *Daphnia* sp. Sebagai bukti adalah bahwa pada hari ke-14, populasi *Daphnia* hampir mendekati 0% (tidak ada *Daphnia* yang hidup), tetapi kisaran  $\text{NH}_3\text{-N}$  jauh meningkat bila dibanding hari ke-7, yakni antara 1.22 - 1.62 ppm. Memperhatikan kondisi tersebut, maka untuk mengelola kualitas media budidaya *Daphnia* perlu ditambahkan perlakuan pergantian wadah. Secara periodik (misalnya setiap tujuh hari), *Daphnia* perlu dipindahkan ke dalam wadah budidaya yang lain dengan kondisi air yang baru.

Konversi pakan *Daphnia* sp yang menggunakan pakan ragi pada konsentrasi 1 gram ragi untuk 80 000 ekor *Daphnia* sp lebih kecil dibandingkan dengan 1 gram ragi untuk 40 000 dan 20 000 ekor *Daphnia* sp. Hal ini dimungkinkan karena pada konsentrasi yang rendah, pakan yang diberikan sudah sesuai dengan kebutuhan *Daphnia* sp. Pada konsentrasi ragi yang lebih tinggi, pakan yang diberikan lebih dari yang dibutuhkan oleh *Daphnia* sp sehingga pakan tidak termanfaatkan dengan baik dan banyak terbuang. Konversi pakan ragi ini lebih baik dari budidaya yang menggunakan dedak sebagai pakannya. Menurut Delbare dan Dhert

(1996) konversi pakan dedak pada budidaya *Daphnia* sp adalah 1.7.

Hasil analisis proksimat menunjukkan, bahwa kandungan lemak *Daphnia* sp pada media kotoran ayam lebih kecil dibandingkan dengan media ragi. Hal ini terjadi akibat adanya perbedaan kandungan nutrisi pakan (kotoran ayam dan ragi). Ragi mengandung karbohidrat (33.22%) yang jauh lebih tinggi dari kotoran ayam (13.68%), sehingga *Daphnia* yang diberi pakan ragi mensintesis lemak lebih tinggi dari perlakuan kotoran ayam.

## PUSTAKA

- Chumaedi dan R. Djajadiredja. 1982. **Kultur Massal *Daphnia* sp di Kolam dengan Pupuk Kotoran Ayam**. Buletin Penelitian Perikanan Darat, Pusat Penelitian Pengembangan Perikanan. Balai Penelitian dan Pengembangan Perikanan, Bogor, 3(2): 17-20.
- Delbare, D. dan P. Dhert. 1996. **Cladocerans, Nematodes and Trochophora Larvae. In Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture**. Edited by Lavens, P and P. Sorgeloos. FAO Fisheries Technical Paper 361. Rome. 295p.
- Dinges, R. R. S. 1973. **Ecology of *Daphnia* in Stabilization Ponds**. Texas States Department of Health, Division of Wastewater Technology and Surveyance, USA. 453p.
- Hariyanto, G. T. 1974. **Studi Perbandingan Populasi *Daphnia* sp dalam Media Kultur Kotoran Ayam Negeri Dewasa (White Leghorn)**. Tesis, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor. 65p.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1993. **Prinsip dan Prosedur Statistik**. PT Gramedia Pustaka Umum Jakarta. 748p.
- Watanabe, T. 1988. **Fish Nutrition and Mariculture**. JICA General Aquaculture Course. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries. 233p.
- Watanabe, T., C. Kitajamai dan S. Fujita, 1983. **Nutritional Value of Live Organism Used in Japan for Mass Propagation of Fish**. Aquaculture, 34: 115-143.